# DÉBIL INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE TABACO NEGRO CUBANO POR EFECTO DE UN EXTRACTO VEGETAL DEL FOLLAJE DE LANTANA TRIFOLIA *L.*

Amaury Borges Miranda[1], Déborah Geada López[1], Iraida Spengler Salabarría[2], Leysi Álvarez Barrabí[1], Milagros García Alemañy[1], Manuel Cuza Naranjo[1] y Sandra E. Vargas Rodríguez[1].
[1]Instituto de Investigaciones del Tabaco. Carretera Tumbadero km 8 ½, San Antonio de los Baños, Artemisa, Cuba.
[2]Centro de Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química Universidad de La Habana. Zapata e/ G e Infanta, Ciudad de La Habana, Cuba.

## RESUMEN

*El objetivo del presente trabajo es analizar el efecto de la concentración y el tipo de aplicación de una solución acuosa del extracto etanólico de hojas de Lantana trifolia L. sobre el crecimiento de plántulas de tabaco obtenidas en bandejas flotantes. Se utilizó un diseño de bloques al azar bifactorial con 4 tratamientos y 20 réplicas. Se consideró a las plantas individuales como unidades experimentales. Se estudiaron dos niveles del factor concentración: dosis final de (0.2 y 0.4) g/bandeja y dos diferentes aplicaciones: preemergente y postemergente, a los 15 y 30 días posteriores a la siembra (DPS). Se añadió un tratamiento control sin aplicación de la solución. El volumen de cada aplicación fue de 1 L por bandeja. Para preparar el extracto se utilizaron 1.5 kg de hojas secas y molidas de la planta, se sometieron a tres ciclos de decocción por 4 h con cambio de solvente, primero en n-hexano y luego en etanol, para obtener 27.3 g del extracto etanólico. El crecimiento de las plántulas se evaluó a los 32, 42 y 48 DPS. Se analizó: la altura de la planta, área foliar y tasa de asimilación neta. El peso seco y la tasa de crecimiento relativo fueron analizados diferencialmente para la parte aérea y la raíz de las plántulas. La aspersión de la solución acuosa del extracto etanólico en dos aplicaciones (0.1 g/L cada una) a los 15 y 30 DPS (dosis final de 0.2 g/bandeja), no inhibe apreciablemente el crecimiento de la parte aérea ni de la raíz de las plántulas de tabaco. Se puede continuar el estudio de este extracto en concentraciones no mayores que la informada, como posible herbicida natural en el cultivo del tabaco.*
**Palabras claves**: *Extracto vegetal, pruebas biológicas, Lantana trifolia L, tabaco*

## ABSTRACT

### WEAK INHIBITION OF THE GROWTH OF DARK CUBAN TOBACCO PLANTLETS BY THE EFECT OF LANTANA TRIFOLIA *L. VEGETATIVE EXTRACT*

The objective of this work is to analyze the effect of the concentration and the application method of an aqueous solution of the ethanolic extract of *Lantana trifolia*

*L leaves on the growth of tobacco plantlets grown in float system. A randomized complete block design in two factors with four treatments and 20 replications was used. The Individual plants were considered as experimental units. Two levels of the factor namely concentration were studied: final doses of (0.2 and 0.4) g/tray and two different applications: before and after the germination at 15 and 30 days after planting (DAP). A control treatment without the application of the solution was added. The volume of each application was 1 L per tray. The extract was prepared using 1.5 kg of Lantana trifolia L. dry and powdered leaves which were exposed to three reflux extraction cycles for four hours changing the solvent. First it was used n-hexane and later ethanol obtaining 27.3 g of the ethanolic extract. Growth of the plantlets was evaluated at 32, 42 and 48 DAP. The height of the plant, leaf area and the net assimilation rate were analyzed. Dry weight and relative growth rate were differentially analyzed for the aerial part and the roots of the plantlets. The spraying of the aqueous solution of the ethanolic extract in two applications (0.1 g/L each one) at 15 and 30 DAP (final dose of 0.2 g/tray) does not inhibit the growth of the aerial part nor the roots of the tobacco plantlets. It could be therefore suggested to continue studying this crude extract as a natural herbicide in tobacco cultivation using concentrations less than or equal to this one recommended in this work.*

***Key words:*** *Plant extract, biological tests, Lantana trifolia L, tobacco.*

## INTRODUCCIÓN

El estudio fitoquímico de las plantas reviste gran importancia, ya que los metabolitos aislados de estas pueden tener diversas aplicaciones, entre las que se destacan ser fuentes de herbicidas naturales. Antecedentes de una investigación desarrollada en el Instituto de Investigaciones del Tabaco, indican que el extracto etanólico inhibe el crecimiento de la raíz y del coleoptilo de plántulas de pepino (dicotiledónea) y trigo (monocotiledónea). El índice de reducción del crecimiento fue mayor para la segunda (Valerino, 2005). La inhibición del crecimiento de las plantas monocotiledóneas hizo pensar que el extracto etanólico podría servir como fuente de herbicidas naturales para el control de malezas en el cultivo del tabaco. No obstante, para comenzar los estudios encaminados a tal fin, se necesita probar que el extracto no tiene una actividad biológica inhibitoria apreciable frente al tabaco.

En Cuba, las investigaciones pioneras en el estudio de especies de plantas con propiedades alelopáticas y potencial uso como herbicidas se realizaron en el Instituto de Investigaciones Fundamentales sobre la Agricultura Tropical (INIFAT), con la colaboración de investigadores de la extinta RDA. Uno de los principales resultados de estos estudios fue la recomendación de una metodología a seguir en el estudio de fracciones activas de extractos naturales (Rodríguez y Villasana, 1986), la cual aconseja comenzar con una concentración mínima de 10 kg de sustancia activa por hectárea, lo que equivale a 1 $g/m^2$.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, la presente investigación se propone analizar el efecto de la concentración y el tipo de aplicación de una solución acuosa del extracto etanólico del follaje de *Lantana trifolia* L. sobre el crecimiento de plántulas de tabaco negro cultivadas en el sistema de bandejas flotantes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención del extracto etanólico

Se utilizaron 1.5 kg de hojas secas y molidas de *Lantana trifolia* L. El proceso de extracción se realizó por decocción tres veces durante 4 h en n-hexano y luego en

etanol. El extracto etanólico se filtró primeramente a presión reducida y luego por gravedad y posteriormente se concentró en roto evaporador hasta sequedad. Se obtuvieron finalmente 27.3 g del extracto etanólico.

## Localización del experimento y material vegetal

Se efectuó un experimento en el Instituto de Investigaciones del Tabaco de San Antonio de los Baños, Artemisa durante la cosecha tabacalera 2009-2010. Se utilizaron bandejas de poliestireno expandido (0.610 m x 0.340 m) con 264 alvéolos en forma de pirámide invertida truncada. Se utilizó sustrato de producción, con una composición de 70 % de turba, 25 % de cascarilla de arroz y 5 % de zeolita. Al sustrato se le tomaron muestras a las que se le realizaron determinaciones por duplicado de pH y conductividad eléctrica, según Martínez (2001).

Las bandejas se llenaron con el sustrato previamente humectado según metodología descrita en MINAG (2001). La siembra se hizo manual, se colocó en cada alvéolo una semilla de la variedad «Criollo' 98". Una vez sembradas las bandejas se colocaron en balsas de madera y se dispusieron en un minitúnel con techo en forma de semicírculo. Las paredes se cubrieron con tela de cheese cloth y el techo con nylon.

## Diseño experimental, observaciones y procesamiento estadístico

Se utilizó un diseño de bloques al azar en un arreglo bifactorial con cuatro tratamientos y 20 réplicas, donde las unidades experimentales fueron las plantas individuales. Los factores en estudio fueron: las concentraciones de la solución, con dos niveles (0.2 y 0.4 g/bandeja) y el tipo de aplicación, con dos niveles (preemergente y postemergente). En los tratamientos postemergentes, se utilizaron dos aplicaciones (una a los 15 y otra a los 30 DPS). Se añadió un tratamiento control sin aspersión de la solución acuosa. El volumen de solución en cada aplicación (pre o postemergente) fue de 1 L. Se efectuaron evaluaciones del crecimiento de las plántulas a los 32, 42 y 48 DPS. Las variables analizadas fueron: altura de la planta, área foliar, peso seco, tasa de crecimiento relativo y tasa de asimilación neta. El peso seco y la tasa de crecimiento fueron analizados diferencialmente para la parte aérea y la raíz.

Se utilizó la prueba de Kolmogorov–Smirnov para chequear el cumplimiento del supuesto de normalidad en la distribución de los datos y la prueba de Levene para el supuesto de homogeneidad de varianza. Los datos del peso seco de la raíz, la altura y la tasa de asimilación neta, no cumplieron los supuestos para las pruebas paramétricas. El efecto de los factores principales se analizó en este caso a través del test de Friedman, mientras se establecieron las diferencias mediante el test de Games–Howell. El área foliar, peso seco de la parte aérea, las tasas de crecimiento relativo de la planta, de la parte aérea y de la raíz se analizaron mediante un ANOVA paramétrico de clasificación doble en el cual se analizó el efecto de los factores principales concentración y tipo de aplicación y la interacción. En los casos en que la interacción fue significativa, se examinó el efecto de los tratamientos mediante un ANOVA de clasificación simple. Para todas las pruebas paramétricas las diferencias se establecieron mediante la prueba de Tukey. Todas las inferencias se realizaron para un nivel de significación del 5 %.

# RESULTADOS

El análisis efectuado al sustrato indicó un pH de 5.29 y una conductividad eléctrica de

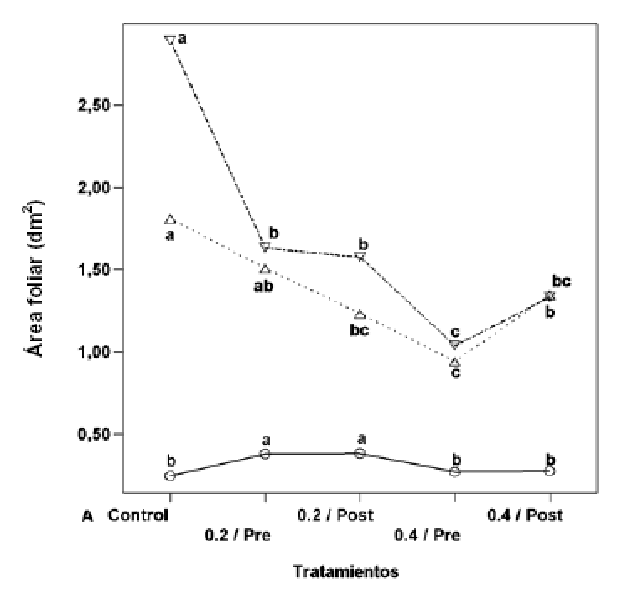
3.99 mS/cm, por lo que se encuentran dentro de los intervalos permisibles (Martínez, 2001).

## Área foliar

En los tres momentos para los que se midió el área foliar (figura 1 A), la interacción de los factores principales fue lo más importante para explicar la respuesta de esta variable. A los 32 DPS se detectó la mayor expansión de las hojas en la combinación de 0.2 g/bandeja, con la aplicación preemergente. A los 42 DPS el control y el tratamiento que combinó 0.2 g/bandeja preemergente tuvieron la mayor área. A los 48 DPS, nuevamente el tratamiento control tuvo la mayor expansión foliar.

## Altura de las plantas

A los 32 DPS el tallo de las plántulas no se consideró, por tener una longitud muy pequeña (figura 1B). En las dos evaluaciones restantes el comportamiento no paramétrico de la altura no permitió un análisis de la interacción de los factores. Tanto la concentración como el tipo de aplicación provocaron una respuesta significativa de la altura a los 42 y 48 DPS. En el primer momento la concentración de 0.2 g/bandeja indujo el mayor crecimiento longitudinal. La aplicación preemergente fue la que más potenció el crecimiento en altura. A los 48 DPS la variante sin aplicación tuvo la mayor elongación del tallo. La concentración de 0.2 g/bandeja y la aplicación postemergente le siguieron en la respuesta.



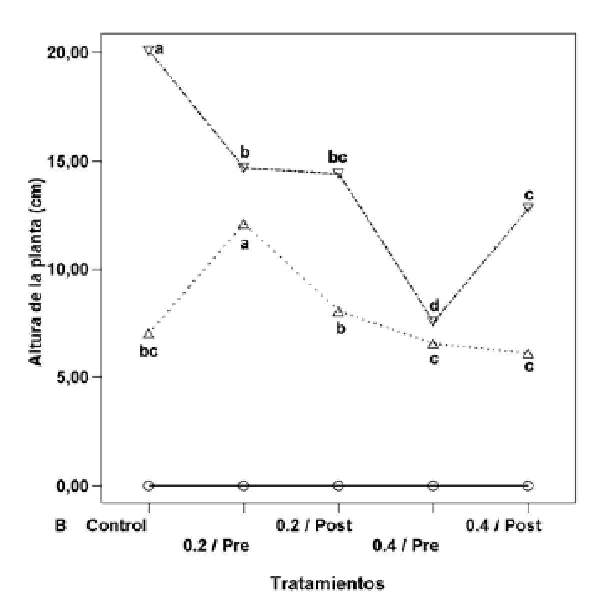




**Figura 1.** Efecto de los tratamientos sobre el área foliar y la altura de plántulas de tabaco negro cultivadas en el sistema de bandejas flotantes

(A): Área foliar

(Æ) y línea continua: área foliar a los 32 DPS; EE = 0.02; CV = 32.4 %. (D) y línea punteada: área foliar a los 42 DPS; EE= 0.10; CV = 37.91 %. (Ñ) y línea de puntos y guiones: área foliar a los 48 DPS; EE = 0.13; CV = 46.23 %. Letras diferentes significan medias diferentes según test de Tukey para un nivel de significación del 5 %.

(B): Altura de la planta

(Æ) y línea contínua: altura a los 32 DPS (no se consideró). (D) y línea punteada: área foliar a los 42 DPS; EE= 0.45; CV = 27.64 %. (Ñ) y línea de puntos y guiones: área foliar a los 48 DPS; EE= 0.63; CV = 35.13 %. Letras diferentes significan medias diferentes según test de Games–Howell para un nivel de significación del 5 %.

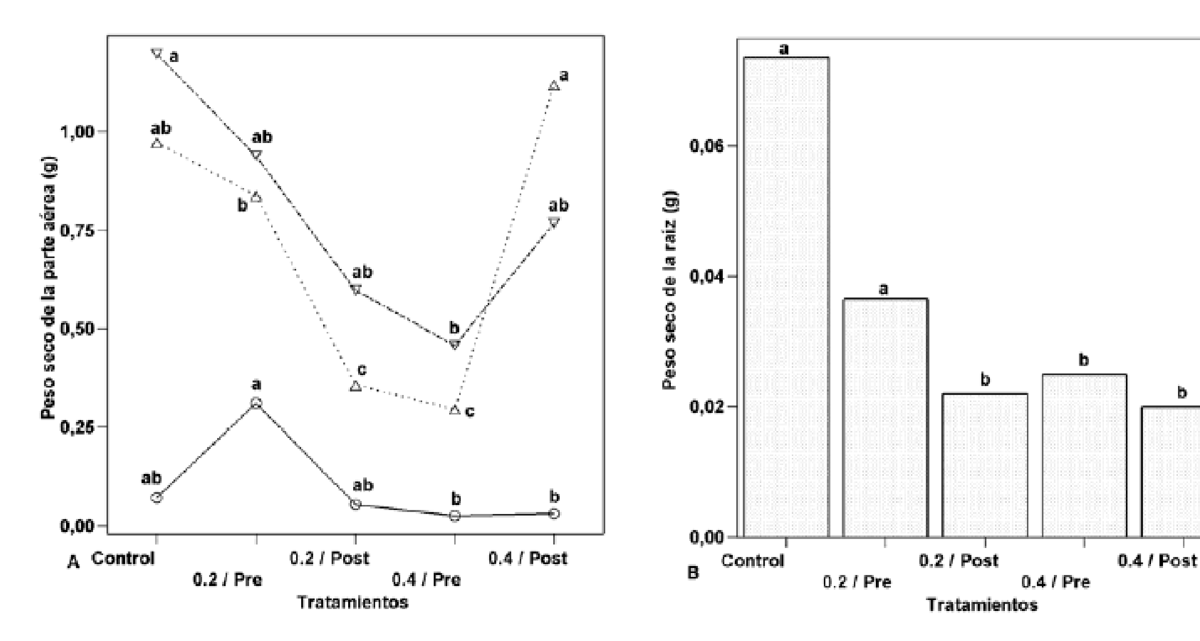



**Figura 2.** Peso seco de la parte aérea y de la raíz para plántulas de tabaco negro cultivadas en el sistema de bandejas flotantes
(A): Peso seco de la parte aérea
(Æ) y línea continua: materia seca a los 32 DPS EE = 0.066; CV= 312 %. (D) y línea punteada: materia seca a los 42 DPS; EE = 0.29; CV = 183 %. (Ñ) y línea de puntos y guiones: materia seca a los 48 DPS; EE = 0.16; CV = 92.9 %. Letras diferentes significan medias diferentes según test de Tukey para un nivel de significación del 5 %.
(B): Peso seco de la raíz a los 32 DPS. EE = 0.08; CV= 111 %. Letras diferentes significan medias diferentes según test de Games–Howell para un nivel de significación del 5 %.

## Peso seco de la parte aérea

A los 32 DPS, solamente la concentración influyó en la respuesta del peso seco de la parte aérea (figura 2 A). La producción de materia seca se potenció al añadir 0.2 g/bandeja sin importar la forma de aplicación. Igual comportamiento tuvo la variante sin aplicación. En las dos restantes evaluaciones la interacción de los factores es lo más relevante para explicar la respuesta de la variable. A los 42 DPS (figura 2 A) la aplicación de 0.4 g/bandeja postemergente favoreció la producción de materia seca, seguido del control. A los 48 DPS el control tuvo la máxima acumulación de materia seca en la parte aérea (figura 2 A) y solamente la aplicación de 0.4 g/bandeja de forma preemergente tuvo una respuesta menor.

## Peso seco de la raíz

El peso seco de la raíz resultó influido por la concentración de la solución y por el tipo de aplicación, sólo a los 32 DPS (figura 2 B). El tratamiento control sin aplicación de la solución permitió el mayor crecimiento radical, seguido por la concentración de 0.2 g/bandeja. En cuanto al tipo de aplicación, el control tuvo el mayor peso seco radical, seguido por la aplicación preemergente.

## Tasa de crecimiento relativo

No se encontró respuesta diferente en las tasas de crecimiento relativo de la planta completa y de la parte aérea para los tratamientos en estudio y sí en la tasa de crecimiento de la raíz que resultó influenciada por el momento de aplicación (figura 3 A) en el intervalo entre los 32 y 42 DPS. La aplicación postemergente potenció más la tasa de crecimiento del órgano, mientras

que la preemergente provocó una respuesta igual al control.
que la preemergente provocó una respuesta igual al control.

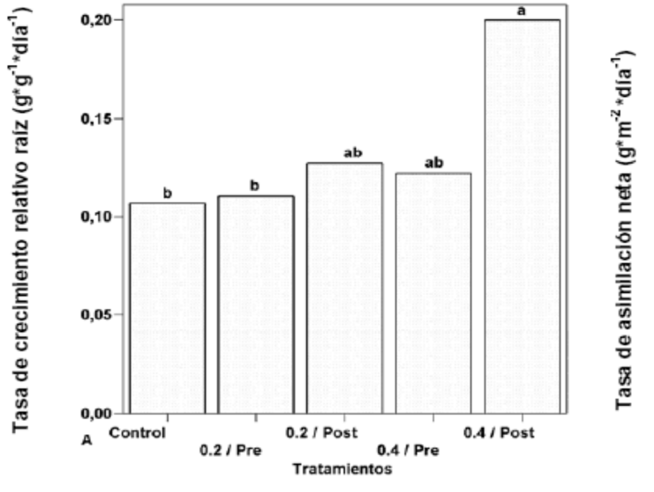
**Tasa de asimilación neta**

En el intervalo de 32 a 42 DPS (figura 3 B), sólo la concentración influyó sobre la tasa de asimilación neta. Las plantas que no recibieron aplicación de la solución tuvieron la mayor tasa de asimilación neta en este intervalo de tiempo y solo aquellas que recibieron la mayor concentración (0.4 g/bandeja) postemergente tuvieron una respuesta igual al control. En el segundo intervalo, de 42 a 48 DPS (figura 3 B), solo el tratamiento de 0.4 g/bandeja postemergente tuvo una tasa de asimilación neta negativa, mucho menor que los demás.

## DISCUSIÓN

A partir de los resultados de Rodríguez y Villasana (1986) y teniendo en cuenta que el área de las bandejas utilizadas es de 0.207 $m^2$, se calculó que la mínima concentración a utilizar sería de 0.2 g por cada bandeja, el cual fue diluido en 1 L de agua. Se decidió igualmente analizar el efecto del doble de esta concentración.

En el presente trabajo se trata de comprobar o refutar la hipótesis de que la solución acuosa del extracto etanólico de *Lantana trifolia* L., no afecta de forma significativa el crecimiento de las plántulas de tabaco cultivadas en el sistema de bandejas flotantes, al menos en alguna de las concentraciones o algún tipo de aplicación. Después del análisis conjunto de los resultados mostrados, se puede afirmar que la hipótesis fue comprobada.



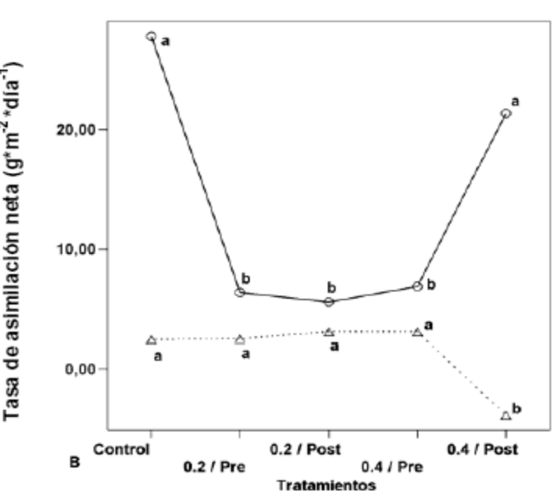




**Figura 3.** Tasa de crecimiento relativo de la raíz y Tasa de asimilación neta de plántulas de tabaco Negro cultivadas en el sistema de bandejas flotantes
(A) Tasa de crecimiento relativo de la raíz en el intervalo de 32 a 42 DPS. EE = 0.02; CV = 74.8%. Letras diferentes significan medias diferentes según test de Tukey para un nivel de significación del 5 %.
(B) Tasa de asimilación neta
(Æ) y línea continua: tasa de asimilación neta en el intervalo de 32 a 42 DPS. EE = 7.05. CV = 237.8 %. (D) y línea de puntos: tasa de asimilación neta en el intervalo de 42 a 48 DPS. EE = 0.269. CV = 380 %. Letras diferentes indican medias diferentes según test de Games–Howell para un nivel de significación del 5 %.

En este experimento se estudian de forma paralela la concentración de la solución y el tipo de aplicación, a través de evaluaciones en tres momentos diferentes. Si se analiza la altura, el área foliar y el peso seco de la parte aérea, se observa que existe un patrón similar en la respuesta, que se caracteriza por una estimulación inicial del crecimiento con la aplicación de 0.2 g/bandeja de la solución de forma preemergente a los 32 DPS (figura 1 y figura 2 A). Por el contrario, en las evaluaciones sucesivas hubo mayor crecimiento del tratamiento control (figura 1 y figura 2 A), que se fue diferenciando en mayor medida respecto a los demás tratamientos con el paso del tiempo. La aplicación preemergente de la solución provoca un efecto negativo sobre el crecimiento en las etapas finales, en un efecto que se ve potenciado por el aumento de la concentración.

Es de interés marcar la diferencia en la respuesta de crecimiento entre la parte aérea y la raíz. En la primera, al realizar la evaluación a los 32 DPS, el crecimiento es el mismo tanto si no se aplica la solución, como al asperjarla a una concentración de 0.2 g/bandeja (figura 1 y figura 2 A). Para el peso seco de la raíz, la solución inhibe el crecimiento en este momento si se utiliza la aplicación postemergente aún con el nivel mínimo de concentración (figura 2 B). Este comportamiento corrobora resultados anteriores obtenidos en ensayos que miden el grado de reducción del crecimiento del tallo y la raíz en plántulas de lechuga y de tomate (ambas dicotiledóneas) en los que se obtiene una inhibición más fuerte en la raíz que en el coleoptilo (Valerino, 2005).

Si se tiene en cuenta que la aplicación postemergente se realiza dividida en dos aspersiones, a los 15 y 30 DPS, es lógico esperar que en la primera evaluación, a los 32 DPS, se detecten respuestas poco influenciadas por este tipo de aplicación. El poco tiempo que media entre estas aspersiones y el momento de la evaluación, podría ser una de las causas de este patrón de variación. Este razonamiento se basa en que la respuesta fenotípica de las plántulas frente a algunos compuestos requiere cierto tiempo para su expresión. La interacción del (o de las) sustancias activas presentes en la solución con los receptores específicos en las células vegetales, desencadenarían una cascada de reacciones y respuestas mediadas por segundos mensajeros hasta el núcleo celular, lo que provocaría cambios en la expresión genética, que posteriormente se traducen a nivel fenotípico (Croteau *et al.,* 2000).

La aspersión preemergente de la solución al sustrato después de haber sembrado las semillas, influyó positivamente en el crecimiento de la parte aérea, que en muchas ocasiones fue superior al control cuando se utilizó la concentración de 0.2 g/bandeja. No obstante, la máxima concentración utilizada tiene un efecto inhibitorio cuando se aplica antes de la germinación. Es importante resaltar que a los 48 DPS, el tratamiento de 0.4 g/bandeja postemergente fue el único cuyo peso seco de la parte aérea disminuyó respecto a la evaluación a los 42 DPS (figura 2 A) y cuya área foliar fue la misma que en la evaluación anterior (figura 1 A). Este resultado indica que aún en la aplicación postemergente, la concentración de 0.4 g/bandeja puede ser beneficiosa cuando se realiza el análisis a los 42 DPS, pero termina por inhibir el crecimiento en la evaluación final. De este análisis se deriva una conclusión práctica importante, que indica la conveniencia de utilizar esta solución como potencial herbicida en la concentración de 0.2 g/bandeja, que no inhibe el crecimiento de la parte aérea de plántulas de tabaco.

La primera evaluación en las raíces (figura 2 B) muestra que las plántulas del tratamiento control, sin diferencias con las que reci-

bieron 0.2 g/bandeja de forma preemergente, tienen un mayor crecimiento. Por el contrario, el patrón de variación de la tasa de crecimiento relativo de la raíz en el intervalo posterior (32 a 42 DPS) tuvo una respuesta completamente inversa y fue mayor para las plantas con aplicación postemergente usando cualquier concentración (figura 3 A). Esta pudo haber sido la causa de que no se encontraran diferencias en el peso seco de las raíces para las dos últimas evaluaciones.

El patrón de crecimiento de la parte aérea concuerda con las variaciones de la tasa de asimilación neta. En el primer intervalo de evaluación de 32 a 42 DPS, se observó para el factor concentración de la solución (figura 3 B), una tasa de asimilación neta favorecida por el tratamiento control e igual en la respuesta con el de la concentración de 0.4 g/bandeja postemergente; lo que explica por qué este tratamiento tuvo mayor peso seco a los 42 DPS sin diferencias con el control (figura 2 B).

Durante el intervalo de 42 a 48 DPS la concentración de 0.4 g/bandeja postemergente produjo una tasa de asimilación neta negativa, por lo que tuvo la menor eficiencia en incorporar materia seca por unidad de área foliar por día (figura 3 B). Esta respuesta es consistente con el hecho de que el tratamiento 0.4 g/bandeja postemergente, fue el único que presentó un peso seco de la parte aérea menor a los 48 que a los 42 DPS (figura 2 A).

Las tasas de crecimiento relativo y de asimilación neta, son variables relevantes dentro de las técnicas de análisis del crecimiento vegetal, pues aunque no proveen informaciones sobre los mecanismos moleculares que median las respuestas, su principal ventaja es que proporcionan mediciones exactas sobre el funcionamiento de las plantas como un todo (Hunt, 1990). De forma general se puede decir que en el primer intervalo de 32 a 42 DPS, hubo una mayor velocidad de incorporación de materia seca por unidad de materia seca presente (datos no mostrados) que en el segundo (42 a 48 DPS), lo que concuerda con Hunt, (1990), quien describe un decrecimiento ontogenético de las tasas de crecimiento relativas en los vegetales.

La tasa de asimilación neta se refiere al ritmo de incremento en peso en función del área foliar (Ortega y Rodés, 1986). Este indicador refleja la ganancia neta en estructuras a través del equilibrio entre fotosíntesis y respiración (De Groot *et al.,* 2003). En el primer intervalo de 32 a 42 DPS (figura 3 B), el control tuvo la mayor tasa de incremento del peso por unidad de área foliar, en una respuesta igual a la obtenida con la máxima concentración de 0.4 g/bandeja asperjada de forma postemergente. Este resultado explica el mayor peso seco de la parte aérea del tratamiento 0.4 g/bandeja / postemergente, sin diferencias con el control a los 42 DPS (figura 2 B). En el segundo intervalo de 42 a 48 DPS la existencia de una tasa de asimilación neta negativa para la aplicación de 0.4 g/bandeja postemergente refuerza la observación de que solo dicho tratamiento tuvo un peso seco de la parte aérea menor a los 48 que a los 42 DPS.

El análisis conjunto de las evidencias obtenidas indica que es posible comenzar a probar la solución acuosa del extracto etanólico de *Lantana trifolia* L. para el control de malezas en el cultivo del tabaco. Este trabajo indicó que no es posible aplicar concentraciones de 0.4 g/L o mayores, pues se afectaría el crecimiento del tabaco, se aconseja 0.2 g/bandeja. Igualmente, el tipo de aplicación más recomendable sería la postemergente.

## CONCLUSIÓN

• Dos aplicaciones de la solución acuosa

del extracto etanólico del follaje de *Lantana trifolia* L., a una concentración de 0.1 g/bandeja (dosis final 0.2 g/bandeja) una a los 15 y otra a los 30 DPS diluidos en 1 L de agua, no causan efectos inhibitorios apreciables del crecimiento de plántulas de tabaco Negro cultivadas en el sistema de bandejas flotantes. Por el contrario, el uso de 0.4 g/bandeja en la misma forma, afecta apreciablemente el crecimiento hacia las etapas finales del semillero. Cuando la solución se asperja de forma directa al suelo inmediatamente después de la siembra, se produce un efecto inhibitorio que se hace mayor con el aumento de la concentración.

## RECOMENDACIONES

• Continuar las investigaciones con el extracto etanólico del follaje de *Lantana trifolia* en el cultivo del tabaco.

## BIBLIOGRAFÍA


Croteau, R., T. M. Kutchan y N. G. Lewis: Secondary metabolites. En: B. Buchanan, W. Gruissem y R. Jones, Eds., *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* chapter 24, 1250-1318, 2000.

De Groot, C. C., L. F. M Marcelis, R. van den Boogaard, W. Kaiser and H. Lambers.: Interaction of nitrogen and phosphorus nutrition in determining growth, *Plant and Soil* 248: 257–268, 2003.

Hunt, R.: *Basic growth analysis. Plant growth analysis for beginners*, 204 pp., Cambridge University Press, London Unwin Hayman, Boston, Sydney, Wellington, 1990.

Martínez J. J.: Sistema de Aprovechamiento de residuos orgánicos para la producción de sustrato y esterilización. En: Seminario sobre Sustrato y Riego, 2001.

MINAG, Ministerio de la Agricultura, Cuba: *Manual Técnico para la producción de posturas de tabaco*. 21 pp., AGRINFOR, La Habana, 2001.

Ortega, E y R. Rodés: *Manual de prácticas de laboratorio de fisiología vegetal*, 196 pp., Ed. Pueblo y Educación, Ciudad de La Habana, 1986.

Rodríguez, A. B. y R. Villasana: Metodología de screening de sustancias bioactivas en la esfera de los herbicidas. Informe de etapa, proyecto Métodos y modelos computacionales en química y biología, Unidad ejecutora INIFAT, Dirección de Ciencia y Técnica, MINAG, 1986.

Valerino, A.: Estudio fotoquímico biodirigido del follaje de Lantana trifolia L. Tesis en opción al grado científico de Master en Química, mención química orgánica. Facultad de Química Universidad de La Habana. 2005.